

Національна академія медичних наук України
ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології
імені О. О. Шалімова»

ЛУКАВЕНКО Іван Михайлович

УДК 618.19-006.03-084-089.8-06:575.822(043.3)

**КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ RvuII ГЕНА РЕЦЕПТОРА
ЕСТРАДІОЛУ АЛЬФА В ОБҐРУНТУВАННІ ПОКАЗАНЬ ДО ХІРУРГІЧНОГО
ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ ДОБРОЯКІСНУ
ДИСПЛАЗІЮ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ**

14.01.03 – хірургія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі хірургії з дитячою хірургією з курсом урології в Медичному інституті Сумського державного університету МОН України.

Науковий керівник – кандидат медичних наук, доцент
АНДРЮЩЕНКО Володимир Вікторович,
Сумський державний університет
МОН України, доцент кафедри хірургії
з дитячою хірургією з курсом урології
Медичного інституту СумДУ.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ДРЮК Микола Федорович,
ДУ «Національний інститут хірургії
та трансплантології імені О. О. Шалімова»
НАМН України, головний науковий
співробітник відділу мікросудинної,
пластичної та відновлювальної хірургії;

доктор медичних наук,
ЧЕШУК Валерій Євгенович,
Національний медичний університет імені
О. О. Богомольця МОЗ України,
професор кафедри онкології.

Захист відбудеться «_____» _____ 2016 р. о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.561.01 при ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О. О. Шалімова» НАМН України (03580, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О. О. Шалімова» НАМН України (03580, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30).

Автореферат розісланий «_____» _____ 2015 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради Д 26.561.01
доктор медичних наук



О. М. Литвиненко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Передпухлинні хвороби молочної залози (МЗ) набули останнім часом значної актуальності. Відомо, що проліферативна доброякісна дисплазія молочної залози (ДДМЗ) є фоном для розвитку раку молочної залози (РМЗ) [Robinson D. R. et al., 2011]. Установлено, що ризик розвитку РМЗ при непроліферативній формі ДДМЗ перевищує популяційний в 1,27 раза; при помірній проліферації – в 1,88 раза, а при атиповій проліферації – у 4,24 раза [Харченко В. П., 2009]. Однак прийняті на цей час методики оцінювання клінічних, інструментальних показників та морфологічних змін МЗ недостатньо інформативні та нерідко є інвазивними, що обмежує їх використання в широкому загалі, особливо під час вагітності та при лактації. Крім того, методи дослідження орієнтовані на вогнищеві утворення, що виявляються при клінічному, ехографічному та/або рентгенологічному дослідженні. Однак доведено, що у 56 % хворих атипова гіперплазія МЗ проходить без розвитку вузла [Байлюк Е. Н., 2010]. Таким чином, діагностика ДДМЗ недостатньо уніфікована, як наслідок, лікування має певні труднощі.

Міжнародна програма «Геном людини» визначила бурхливий розвиток й активне впровадження в клінічну практику молекулярної медицини і зокрема генодіагностики. Уявлення про існування «генів схильності», мутантні алелі яких сумісні з народженням і життям у постнатальному періоді, істотно розширили погляди на патогенез мультифакторних хвороб. Такі гени можуть сприяти розвитку того чи іншого захворювання. З огляду на поширеність захворюваності на ДДМЗ пошук механізмів її ранньої діагностики є важливим. Оскільки ця хвороба сьогодні розглядається як етап від проліферації до атипії, своєчасне виявлення дисплазії відкриває шляхи до профілактики РМЗ.

Серед генів, поліморфізми яких можуть відігравати певну роль у розвитку ДДМЗ, є ген рецептора естрадіолу альфа ($EsR\alpha$). У 1991 з'явилися перші та суперечливі повідомлення про те, що перебудови у локусі кодування $EsR\alpha$ пов'язані з розвитком проліферації й малігнізації в МЗ [Zurpan P. et al., 1991]. На сьогодні $RvuII$ є найбільш вивченим поліморфізмом гена $EsR\alpha$. Проте інформації щодо впливу $RvuII$ на розвиток проліферативних форм ДДМЗ в Україні не знайдено. Вивчення поліморфізму $RvuII$ полягає у забезпеченні клініцистів прогностичною інформацією стосовно особливостей естрогенпозитивного та естрогеннегативного статусів вогнищ ДДМЗ. Перспективними методами у розмежуванні осіб із підвищеним ризиком проліферативних змін при дисплазії МЗ є молекулярно-генетичні дослідження. Визначення у пацієнтів генотипу за $RvuII$ -поліморфізмом гена $EsR\alpha$ дозволило наблизитися до кінцевої мети – визначити хворих, яким потрібна рання діагностика і хірургічне лікування, та встановити осіб із меншим ризиком, яких можна орієнтувати на консервативну терапію. Саме з'ясуванню цієї обставини присвячена наша робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідних тем Медичного інституту СумДУ: «Репродуктивне здоров'я жінок Сумщини» (номер держреєстрації 0110U007596), «Роль алельного

поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб» (номер держреєстрації 0110U005038), «Морфогенез загальнопатологічних процесів» (номер держреєстрації 0113U003315).

Мета дослідження – розробити критерії діагностики проліферативної доброякісної дисплазії молочної залози на основі імуногістохімічних та молекулярно-генетичних досліджень із метою обґрунтування показань до хірургічного лікування.

Завдання дослідження

1. Визначити частоту алельних варіантів поліморфізму PvuII гена EsR α у хворих на доброякісну дисплазію молочної залози.

2. Визначити провідні клінічні предиктори формування доброякісної дисплазії молочної залози у жінок із факторами ризику патології грудей.

3. Установити морфологічні та імуногістохімічні (експресія EsR α) особливості при різних типах проліферативних змін молочної залози.

4. Вивчити вплив поліморфізму PvuII гена EsR α на експресію EsR α у молочній залозі та визначити їх діагностичну значущість у хворих на доброякісну дисплазію молочної залози.

5. Визначити доцільність генетичних досліджень за вивченим поліморфізмом із метою обґрунтування хірургічного лікування хворих на доброякісну дисплазію молочної залози на підставі статистичного математичного аналізу.

6. Вивчити можливості розроблення і практичного застосування алгоритму діагностичної та лікувальної тактики у хворих на проліферативні форми доброякісної дисплазії молочної залози.

Об'єкт дослідження – проліферативні форми доброякісної дисплазії молочної залози.

Предмет дослідження – участь генетичного чинника (однонуклеотидного поліморфізму PvuII гена EsR α) у розвитку доброякісної дисплазії молочної залози.

Методи дослідження: клінічні методи дослідження, що доводять ДДМЗ і характеризують антропометричні, функціональні, біохімічні та інші показники; морфологічні, імуногістохімічні (ІГХ) методи, які характеризують особливості рецепторного статусу ураженої тканини при ДДМЗ; визначення різних варіантів однонуклеотидного поліморфізму PvuII гена EsR α із використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим проведенням аналізу фрагментів ДНК, одержаних за допомогою відповідних рестриктаз; методи статистичного аналізу.

Наукова новизна результатів. Уперше вивчено розподіл алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом PvuII у хворих на проліферативну форму доброякісної дисплазії молочної залози.

Уперше здійснено комплексний аналіз і виявлено зв'язок клініко-анамнестичних, імуногістохімічних предикторів проліферативної доброякісної дисплазії молочної залози з молекулярно-генетичними особливостями за поліморфізмом PvuII гена EsR α . Доведено, що носії мінорного алеля C/C за поліморфізмом PvuII гена EsR α мають схильність до виражених проліферативних та атипичних змін тканини молочної залози. Показано, що у розвитку проліферативної

мастопатії важливу роль відіграє рівень експресії EsR α , зумовлений наявністю мінорного алеля C/C за поліморфізмом PvuII гена EsR α .

Уперше доведено доцільність визначення генотипу пацієнта за поліморфізмом PvuII гена EsR α під час обстеження ДДМЗ і використання цього генетичного маркера як достовірного критерію необхідності хірургічного лікування.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження розширюють теоретичні знання про причини й механізми розвитку ДДМЗ, фактори ризику, ранню діагностику, вибір оптимальної тактики лікування проліферативної дисплазії та дієву профілактику РМЗ.

Одержані дані доводять необхідність генотипування за поліморфізмом PvuII гена EsR α пацієнтів групи високого ризику атипії тканини молочної залози з метою вирішення питання про доцільність хірургічного лікування та запобігання розвитку малігнізації.

Доведено, що генотип C/C за поліморфізмом PvuII гена EsR α асоційований зі збільшенням експресії EsR α та ступенем проліферації при ДДМЗ.

Доведено, що при поєднанні клінічних предикторів проліферативної дисплазії молочних залоз (мастодинія, тривалий період mensis), зменшенні індексу маси тіла (ІМТ) із гомозиготним станом C/C за поліморфізмом PvuII гена EsR α показане хірургічне лікування із подальшим ІГХ тестом.

На підставі одержаних результатів ми розробили та впровадили для застосування практичні рекомендації з діагностики, профілактики та лікування ДДМЗ зі схильністю до активної проліферації.

Розроблено та запропоновано в практику методики хірургічного лікування проліферативної форми доброякісної дисплазії молочної залози, а саме:

- спосіб профілактики лактаційної дисфункції при хірургічному лікуванні доброякісних новоутворень молочних залоз (патент України № 84896);
- спосіб оперативного лікування доброякісних захворювань протокової системи молочної залози (патент України № 83922);
- спосіб підшкірної мастектомії з одномоментним субмускулярним ендопротезуванням молочних залоз силіконовими імплантатами (патент України № 83954).

Розроблено та впроваджено в практику хірургічний інструмент для фіксації та утримання доброякісного новоутворення молочної залози (патент України № 83923).

Особистий внесок здобувача. Визначення теми дисертації, постановлення завдань дослідження, обговорення та узагальнення результатів дослідження проведено разом із науковим керівником – канд. мед. наук, доцентом Андрющенком Володимиром Вікторовичем. Дисертант вивчив і проаналізував наукову й патентну літературу. Самостійно обґрунтував актуальність, визначив мету досліджень, провів підбір, клінічне обстеження хворих та формування груп пацієнтів із ДДМЗ. Дисертант самостійно забезпечив організацію проведення лабораторних досліджень, клінічне обстеження та лікування хворих. Статистично опрацював і проаналізував результати досліджень. Написав усі розділи дисертації, сформулював основні положення та висновки, що виносяться на захист, оформив дисертаційний матеріал.

Апробація результатів дисертаційної роботи. Основні положення і результати наукової праці доповідалися та обговорювалися на: III Міжнародному науково-практичному семінарі, присвяченому Всесвітньому дню боротьби з раком (2012 р.); Міжнародній науковій конференції студентів і молодих учених «Актуальні питання сучасної медицини» (2014 р.); I та II Міжнародних науково-практичних конференціях студентів і молодих учених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (2013, 2014 рр.); IV З'їзді ВАПРЕХ «Актуальні питання пластичної, реконструктивної та естетичної хірургії» (2014 р.); 1st International Academic Congress «Fundamental and Applied Studies in the Pacific and Atlantic Oceans Countries» (Tokyo, Japan, 25 October 2014).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці, в яких повністю відображені основні результати дисертації, зокрема 4 статті – у фахових наукових виданнях України; 2 статті – у виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus, 1 – у зарубіжному виданні, 12 публікацій – у вигляді тез доповідей наукових конференцій та конгресів. Отримано 4 деклараційні патенти України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 135 сторінках друкованого тексту, складається з таких розділів: вступу, огляду літератури, розділів матеріалів та методів дослідження, результатів власного дослідження, порівняльного оцінювання результатів дослідження, аналізу та обговорення одержаних результатів та висновків. Список використаних джерел включає 184 найменування. Робота ілюстрована таблицями, малюнками та схемою діагностичного алгоритму доброякісної дисплазії молочних залоз.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. В основу роботи покладено результати комплексного обстеження та хірургічного лікування 84 осіб у віці 16–62 роки (середній вік (32 ± 1) рік), хворих на ДДМЗ. Хворих обстежували на клінічних базах кафедри хірургії з дитячою хірургією з курсом урології Медичного інституту СумДУ упродовж 2012–2013 років. Серед обстежених 81 (96,4 %) особа – етнічні українки, 3 (3,6 %) – росіянки. Обтяжений анамнез щодо РМЗ у близьких родичів мали 33 (39,3 %) особи.

Морфологічні дослідження проводилися у центрі патоморфологічних досліджень кафедри патологічної анатомії, а молекулярно-генетичні дослідження – у науковій лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Медичного інституту Сумського державного університету. Робота передбачала декілька етапів.

Перший етап – відбір пацієнтів з ознаками генетичної схильності до хвороб МЗ, а саме: множинні первинні пухлини в одному органі; множинні первинні пухлини в різних органах; білатеральні первинні пухлини в парних органах; мультифокальність усередині одного органа; поява пухлини в ранньому віці (до 21 року); один чи більше близьких родичів із подібним типом пухлин; дві рідні людини чи більше з подібним типом пухлин; дві рідні людини чи більше з пухлинами подібної локалізації; дві рідні людини й більше з пухлинами, що належать до сімейного раку; дві рідні людини і більше з рідкісною формою раку; три рідні

людини та більше у двох поколіннях із пухлинами однієї локалізації [Болгова Л. С., Смоланка І. І., 2010]. Критеріями винятку були: непроліферативні зміни у МЗ; відсутність ознак генетичної схильності до хвороб грудей; відмова пацієнта брати участь у дослідженні.

За віком досліджені були поділені на три групи: до першої групи (до 21 року) ввійшло 15 (17,8 %) осіб, до другої (22–39 років) – 43 (51,2 %), до третьої (старших за 40 років) – 26 (31,0 %) досліджених. Під час аналізу антропометричних даних у обстежених відхилень від популяційних норм не виявлено: середня маса тіла становила ($59,4 \pm 1,2$) кг, середній зріст – ($166,6 \pm 0,63$) см, а ІМТ – ($21,41 \pm 0,42$) кг/м².

Брали до уваги шкідливі звички. Так, серед досліджених 36 (42,9 %) осіб палили і вживали алкоголь; 48 (57,1 %) – не палили, а алкоголь уживали дуже рідко. У соматичному анамнезі пацієток серед хвороб серцево-судинної системи переважали вегетативно-судинні порушення – 43 (51,2 %) особи, серед хвороб шлунково-кишкового тракту – хронічний гастрит – 6 (7,1 %), серед захворювань ендокринної системи – наявність зоба у 9 (10,7 %) пацієток, епізодичне збільшення естрадіолу у крові виявлено у 10 (11,9 %) досліджених.

Тривалість основної хвороби (ДДМЗ) становила у середньому ($2,65 \pm 0,20$) років. Середній розмір ураженої ділянки молочної залози дорівнював ($22,5 \pm 1,23$) мм.

У 44 осіб (53,4 %) діагностовано одне новоутворення молочної залози, у 34 (40,5 %) – два новоутворення, а у 6 (7,1 %) – по три ділянки ураження молочної залози. Новоутворення в усіх досліджених були видалені з подальшими гістологічним та імуногістохімічним дослідженнями. Таким чином, 74,6 % хворих на проліферативну форму ДДМЗ оперовані з приводу мультифокального ураження молочних залоз.

Аналіз анатомо-гістологічних даних не виявив уроджених дефектів чи аномалій розвитку молочної залози. Висота фіброгландулярної тканини, за даними сонографії, становила у середньому ($18,82 \pm 0,64$) мм, а висота залозистого компонента – ($13,46 \pm 0,47$) мм відповідно. У 30 (35,7 %) оперованих мало місце двобічне ураження, у 54 (64,3 %) – одnobічне.

Особливу увагу приділяли аналізу акушерського та гінекологічного анамнезів. Так, у вивчених пацієток настання менархе відбувалося у середньому в ($13,30 \pm 0,18$) року. Тривалість менструального циклу становила ($27,81 \pm 0,35$) дня. Аборти в анамнезі відзначали 28 (33,3 %) жінок. Крім того, майже третина пацієток – 26 (31 %) – упродовж останніх п'яти років приймала гормональні препарати з метою контрацепції чи лікування гінекологічних захворювань. Інші 58 (69,0 %) осіб заперечували вплив на свій організм екзогенних гормональних препаратів.

З анамнезу та результатів обстеження встановлено, що 43 (51,2 %) пацієтки раніше не спостерігалися та не лікувалися з приводу будь-яких захворювань статевих органів, а 41 (48,8 %) досліджена мала хронічні захворювання матки чи її додатків: аднексит, порушення менструального циклу, кісти яєчників.

Ніколи не народжували 42 (50,0 %) пацієнтки, інші 42 (52,0 %) – мали пологи і лактацію в анамнезі. Лактація понад 6 місяців у 11 (13,1 %) пацієнток була двічі, один раз – у 31 (36,9 %) відповідно до кількості пологів.

Травму молочної залози в анамнезі, зокрема й оперативні втручання, зафіксовано у 17 (20,2 %) досліджених. У процесі діагностування ДДМЗ явища сецернації спостерігали у 17 (20,2 %) осіб.

Ультразвукове дослідження (УЗД) проводили за допомогою ультразвукової діагностичної системи з мультичастотним лінійним датчиком із частотою 6–12 МГц. Мамографію виконували у кабінеті мамографії Сумського обласного психоневрологічного.

Оцінювання характеристик УЗД та рентгенологічної картини визначалося за шкалою BIRADS американської колегії рентгенологів.

Розподіл об'єктів за класами BIRADS УЗД засвідчив, що 66 (49,3 %) досліджених мали індекс BIRADS 3 і лише у 18 (13,4 %) виявили чіткі прояви проліферативної активності, це обґрунтовувало показання до інвазійних методів діагностики (BIRADS 4). У решти 50 (37,3 %) новоутворень ознак активної проліферації під час УЗД не встановлено, їм надано індекс BIRADS 1 і 2. Аналогічну ситуацію спостерігали під час аналізу розподілу новоутворень за класами BIRADS при мамографії. Проте з огляду на віковий ценз рентгенодіагностиці підлягала значно менша кількість пацієнтів. Аналіз даних мамографії проведений стосовно 30 осіб: індекс BIRADS 1 встановлено у 5 осіб (16,7 %), BIRADS 2 – у 13 (43,2 %), BIRADS 3 – у 7 (23,3 %), BIRADS 4 – у 5 (16,7 %).

Другий етап роботи – хірургічне лікування та розроблення бази даних оперованих осіб, аналіз морфологічних зразків та генетичного тесту.

У процесі роботи вивчено 134 новоутворення молочних залоз, одержаних від 84 оперованих пацієнтів. У 72 (53,7 %) випадках морфологічному дослідженню підлягала тканина з одного органа, а у 62 (46,3 %) – аналізовані новоутворення, видалені при двобічному ураженні грудей. Середній термін доклінічного спостереження за досліджуваними становив ($2,78 \pm 0,161$) року. При цьому середній розмір патологічного новоутворення дорівнював ($22,29 \pm 1,02$) мм.

Більша частина операційних препаратів – 94 (70,2 %), видалених із приводу ДДМЗ, належали пацієнткам молодого віку (до 40 років); 40 (29,8 %) морфологічних препаратів належала пацієнткам у віці понад 40 років. Значна кількість морфологічних зразків зумовлена множинним ураженням молочної залози.

Більшість морфологічних препаратів належала оперованим, які ніколи не зазнавали впливу комбінованих оральних контрацептивів (КОК), – 95 (70,9 %), а 39 (29,1 %) зразків морфологічних препаратів належали жінкам, які одержували гормонотерапію з метою лікування чи контрацепції.

Гістологічний матеріал був узятий у жінок, які не мали в анамнезі гінекологічних захворювань, – 71 (53,0 %) зразок, і в осіб, які відзначали хвороби матки та її додатків, – 63 (47,0 %) зразки.

Серед досліджених морфологічних препаратів ДДМЗ 69 (51,5 %) зразків одержані від жінок, які не народжували, і 65 (48,5 %) – від пацієнок, які народжували та мали лактацію.

Кількість гістологічних зразків, одержаних у жінок, в анамнезі яких відзначалися аборти, становила 44 (32,8 %), решта 90 (67,2 %) – у пацієнок, які не мали в анамнезі абортів.

Усі гістологічні зразки, отримані з осередків ДДМЗ, мали класичну гістологічну структуру і відрізнялися за типом проліферативних змін. У більшості гістологічних зразків – 65 (48,5 %) – переважав фіброепітеліальний тип проліферації. Переважання міоепітеліального типу проліферації спостерігали у 15 (11,2 %). Епітеліальну долькову та епітеліальну протокову проліферації спостерігали на 25 (18,7 %) та 29 (21,6 %) препаратах відповідно.

У дослідженні переважали зразки ДДМЗ із проліферативною активністю 3 – 4-го ступенів та метаплазією на окремих ділянках чи зразках із тенденцією до атипових змін у 86 (64,2 %) досліджених. Новоутворення з невираженою проліферативною активністю 1–2-го ступенів становили меншість – 48 (35,8 %) досліджень.

Результати цитологічного дослідження були поділені на категорії від C1 до C5 залежно від інформативності препарату [Moinfar F., 2007]. Так, у 21 (15,7 %) дослідженні пунктату цитологічна експертиза засвідчила активний проліферативний процес, а у 113 (84,3 %) – відзначала типову цитоморфологічну характеристику доброякісного новоутворення з ознаками невираженої проліферативної активності без атипових ознак.

ІГХ-дослідження виконували на тих самих фрагментах молочної залози, отриманих після хірургічного втручання у 84 хворих.

Результати імуногістохімічних реакцій експресії EsR α оцінювали напівкількісним способом за 8-бальною шкалою з урахуванням частки забарвлення ядер та його інтенсивності [Allred D. C., et al., 1998]. Негативною реакцією вважали суму балів 0–2, слабкопозитивною – 3–4, помірнопозитивною – 5–6 і сильнопозитивною – 7–8 балів.

Аналіз результатів розподілу морфологічних зразків за ступенем експресії EsR α у молочній залозі при її доброякісній дисплазії виявив значну неоднорідність. У 78 (58,2 %) зразках переважала слабкопозитивна реакція (3–4 бали). Найменше виявлено зразків із сильнопозитивною (7–8 балів) ІГХ-реакцією до EsR α – 8 (6,0 %). Зразки з помірнопозитивною (5–6 балів) та негативною (0–2 бали) реакціями виявлені у 29 (21,6 %) та 19 (14,2 %) досліджених відповідно. Середній рівень експресії EsR α становив $(3,96 \pm 0,134)$ бала.

Морфологічні препарати поділили на дві групи. Критерієм поділу був рівень експресії EsR α . Так, до першої групи було віднесено 74 (55,2 %) естрогенпозитивні зразки, до другої групи – 60 (44,8 %) естрогеннегативних зразків. Позитивними вважали зразки з ІГХ-реакцією не менше ніж у 10 % клітин (більше 3 балів).

На третьому етапі (молекулярно-генетичне) дослідження венозну кров у оперованих осіб забирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл із

калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ), заморожували та зберігали за температури -20°C .

Під час аналізу розподілу варіантів генотипів за поліморфізмом PvuII гена EsR α видалених новоутворень у оперованих осіб одержали такі результати: генотип T/T – у 36 (26,9 %) осіб, генотип T/C – у 71 (53,0 %), генотип C/C – у 27 (20,1 %) оперованих.

Результати аналізу частот окремих генотипів за поліморфізмом PvuII залежно від рецепторного статусу новоутворень засвідчили, що у зразках EsR α -новоутворень співвідношення гомозигот за основним алелем (T/T), гетерозигот (T/C) і гомозигот за мінорним алелем (C/C) становило 4 (5,4 %), 43 (58,1 %) і 27 (36,5 %) відповідно; у зразках EsR α + реакції – відповідні показники співвідношення гомозигот дорівнювали 32 (53,3 %), 28 (46,7 %) та 0 (0 %).

Урахувавши описову частину досліджуваного матеріалу, ми проводили порівняльний аналіз усіх вивчених критеріїв із поліморфізмом PvuII гена EsR α та експресією EsR α . Результати спостереження заносили до окремої, спеціально розробленої тематичної таблиці. Для вибору статистичних методів дослідження першочергово визначали, до якої статистичної шкали (номінальної, порядкової, інтервальної) належать змінні. Для змінних, що належать до інтервальної шкали (вік, маса тіла, результати імуногістохімічних досліджень), перевіряли, чи підпорядковуються їх значення нормальному розподілу. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили за допомогою критерію Стюдента (t). На основі величини t і кількості ступенів вільності ($1 = n_1 + n_2 - 2$) за таблицею розподілу Стюдента визначали достовірність відмінностей двох вибірок (P). Відмінність вважали достовірною, якщо достовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($p < 0,05$). Для перевірки розрахунків оцінювання відмінностей у середніх тенденціях та незалежних вибірках використовували непараметричні критерії, а саме: критерій Вілконсона – Манна – Уїтні (критерій U) і точний метод Фішера для чотирипільної таблиці. Для дослідження значущості відмінностей між середніми значеннями декількох груп даних (групи з різними генотипами) використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA – analysis of variance) із критерієм Фішера. Для визначення статистичної значущості різниць частот алелів і генотипів у групах хворих використовувався критерій χ^2 Пірсона.

Результати дослідження та їх обговорення.

На першому етапі роботи ми виявили зв'язок деяких особливостей клінічного перебігу ДДМЗ із вивченим поліморфізмом.

Ми встановили, що у пацієнтів – носіїв мінорного алеля (C/C), оперованих із приводу ДДМЗ, показник ІМТ достовірно більший, ніж у носіїв основного алеля (T/T) і гетерозиготних носіїв із генотипами T/C ($F = 8,050$; $P = 0,001$). Крім того, ми визначили, що наявність патологічного алеля C/C в оперованих пов'язана з існуванням у хворих мастодинії ($\chi^2 = 11,444$; $P = 0,003$). Також дослідили, що жінки-гомозиготи за мінорним алелем (C/C) мали достовірно триваліший перебіг *mensis*, ніж гетерозиготи (T/C) та гомозиготи за основним алелем (T/T): ($5,67 \pm 0,30$) дня проти ($5,47 \pm 0,30$) та ($4,88 \pm 0,19$) дня відповідно ($F = 3,017$; $P = 0,005$). Усе це

доводить, що наявність поліморфізму PvuII гена EsR α хоча й не призводить до зміни рівня естрадіолу крові, однак впливає на метаболізм естрогену, найімовірніше, через зміну якісних та кількісних характеристик EsR α . Клінічним проявами чого може бути саме тривалість *mensis*.

Аналіз даних за поліморфізмом PvuII гена EsR α з іншими клінічними предикторами ДДМЗ статистичного зв'язку не виявив.

На другому етапі ми довели залежність між ступенем трансформації гістологічних структур у зоні ДДМЗ і рецепторним статусом тканини МЗ (табл. 1) та між алельним розподілом за поліморфізмом PvuII гена EsR α і ступенем проліферації у цій зоні (табл. 2).

Таблиця 1

Зв'язок експресії EsR α зі ступенем проліферативних змін при ДДМЗ

Експресія EsR α	Ступінь проліферації	
	значна проліферативна активність із тенденцією до атипових змін (3–4-го ступенів), n (%)	невиражена проліферація без атипії (1–2-го ступенів), n (%)
EsR α -	14 (29,2)	46 (53,5)
EsR α +	34 (70,8)	40 (46,5)
Разом	48 (100)	86 (100)
$\chi^2 = 7,370; P = 0,007$		

Примітки: n – кількість морфологічних зразків; EsR α - – рецепторнегативні зразки за експресією EsR α ; EsR α + – рецепторпозитивні зразки за експресією EsR α

Із табл. 1 бачимо, що в оперованих осіб із рецепторнегативними новоутвореннями переважали зразки із незначною проліферацією без атипії, ніж кількість зразків зі значною проліферативною активністю, у 1,8 раза, а в оперованих із рецепторпозитивними новоутвореннями переважали зразки зі значною проліферативною активністю й схильністю до атипії порівняно з кількістю зразків з невираженою проліферацією в 1,5 раза. При порівнянні кількості зразків зі значною проліферативною активністю та метаплазією в окремих ділянках із тенденцією до атипових змін серед оперованих з естрогеннегативним й естрогенпозитивним статусами встановлено переважання у групі останніх у 2,4 раза. Обчислення за χ^2 -критерієм Пірсона показало, що гістологічні препарати ДДМЗ із проліферацією 3–4-го ступенів траплялися достовірно частіше серед осіб із рецепторпозитивним статусом, ніж серед зразків із рецепторнегативним статусом – 14 (29,2 %). Таким чином, можна припустити, що проліферативна активність при ДДМЗ залежить від рівня експресії EsR α і зростає при її збільшенні у тканині молочної залози.

Із табл. 2 можна помітити, що у гомозигот за основним алелем (Т/Т) невиражена проліферація без атипії переважала над значною проліферативною активністю у 3,5 раза, а серед гетерозигот (Т/С) – в 1,5 раза. При цьому при генотипі С/С спостерігалось протилежне: значна проліферативна активність із тенденцією до проліферативних змін превалювала над кількістю зразків із невираженою проліферацією у 14,3 раза.

Зв'язок алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII зі ступенем проліферативних змін при ДДМЗ

Генотип	Ступінь проліферації	
	значна проліферативна активність із тенденцією до атипових змін (3–4-го ступенів), n (%)	невиражена проліферація без атипії (1–2-го ступенів), n (%)
T/T	5 (10,4)	31 (36,0)
T/C	19 (39,6)	52 (60,5)
C/C	24 (50,0)	3 (3,5)
Разом	48 (100)	86 (100)
$\chi^2 = 43,142; P < 0,0001$		

Примітка: n – кількість морфологічних зразків

Разом із тим у зразках 3–4-го ступенів проліферації співвідношення гомозигот за основним алелем (T/T – 10,4 %), гетерозигот (T/C – 39,6 %) і гомозигот за мінорним алелем (C/C – 50,0 %) було меншим на користь генотипу T/T у 4,8 раза. Показник P, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, був меншим від 0,0001, що підтверджує достовірну різницю в розподілі алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII в оперованих із різним ступенем проліферації осередків ДДМЗ.

Таким чином, можемо стверджувати, що серед зразків видалених препаратів у осіб із ДДМЗ існує зв'язок між поліморфізмом RvuII гена EsR α і ступенем проліферативних змін новоутворень: при генотипі T/T в осередках ДДМЗ переважає проліферація 1–2-го ступенів, а при генотипі C/C – проліферація – 3–4-го ступенів.

На третьому етапі роботи визначався зв'язок між рівнем експресії EsR α і молекулярно-генетичним маркером – поліморфізмом RvuII гена EsR α .

Ми припустили, що при ДДМЗ різні алельні варіанти поліморфізму RvuII можуть впливати на рівень експресії EsR α в осередках проліферації. Результати статистичного аналізу наведені у таблицях 3 і 4.

Зв'язок алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII залежно від рецепторного статусу при ДДМЗ

Генотип	EsR α -, n (%)	EsR α +, n (%)
T/T	32 (53,3)	4 (5,4)
T/C	28 (46,7)	43 (58,1)
C/C	0 (0)	27 (36,5)
Разом	60 (100)	74 (100)
$\chi^2 = 51,041; P < 0,0001$		

Примітки: n – кількість морфологічних зразків; EsR α - – рецепторнегативні зразки за експресією EsR α ; EsR α + – рецепторпозитивні зразки за експресією EsR α

Результати підтверджують наше припущення і доводять, що гомозиготний стан (С/С) за мінорним алелем поліморфізму RvuII асоційований із більшою експресією EsR α в осередках проліферативної ДДМЗ. Показник P, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, був меншим від 0,0001, що свідчить про достовірну різницю вивчених показників. Наведений зв'язок при ДДМЗ залежав від ступеня експресії EsR α в новоутвореннях (табл. 4).

У зразках із негативним рівнем експресії співвідношення гомозигот за основним алелем (Т/Т), гетерозигот (Т/С) і гомозигот за мінорним алелем (С/С) становило 100; 0 і 0 %; при слабконегативному ступені відповідні показники становили 21,8; 78,2 і 0 %, при помірнопозитивному – 0; 34,5; 65,5 %, при сильнопозитивному – 0; 0; 100 %. Отже, при генотипі Т/Т ступінь експресії EsR α був негативним у 100 %, у той час як при генотипі С/С такий рівень (100 %) був сильнопозитивним, що є маркером значної проліферації з атипією (табл. 1). Показник P, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, був меншим від 0,0001, що свідчить про достовірну різницю у розподілі алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII у пацієнтів із різним рівнем експресії рецептора.

Таблиця 4

Зв'язок алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII в оперованих із різним ступенем експресії EsR α при ДДМЗ

Генотип	Ступінь експресії EsR α , n (%)			
	негативна	слабкопозитивна	помірнопозитивна	сильнопозитивна
Т/Т	19 (100)	17 (21,8)	0 (0)	0 (0)
Т/С	0 (0)	61 (78,2)	10 (34,5)	0 (0)
С/С	0 (0)	0 (0)	19 (65,5)	8 (100)
Разом	19 (100)	78 (100)	29 (100)	8 (100)
$\chi^2 = 148,541$; P < 0,0001				

Примітка: n – кількість морфологічних зразків

На підставі одержаних результатів ми розробили алгоритм обстеження пацієнок із доброякісними пухлинами та передпухлинними захворюваннями МЗ, що доповнює Накази МОЗ України № 624 від 03.11.2008 р. та № 645 від 30.07.2010 р. (рис. 1).

Жінкам із проявами ДДМЗ показане інструментальне обстеження: мамографія з використанням УЗД, патоморфологічних методів, зокрема інтервенційної радіології. Залежно від результатів проведеного обстеження формується подальший маршрут пацієнта.

На першому етапі діагностичного пошуку спеціаліст проводить комплексне обстеження: збирає анамнез із урахуванням факторів ризику, проводить огляд і пальпацію молочних залоз та регіональних зон лімфатичного відтоку, УЗД, призначає мамографію.

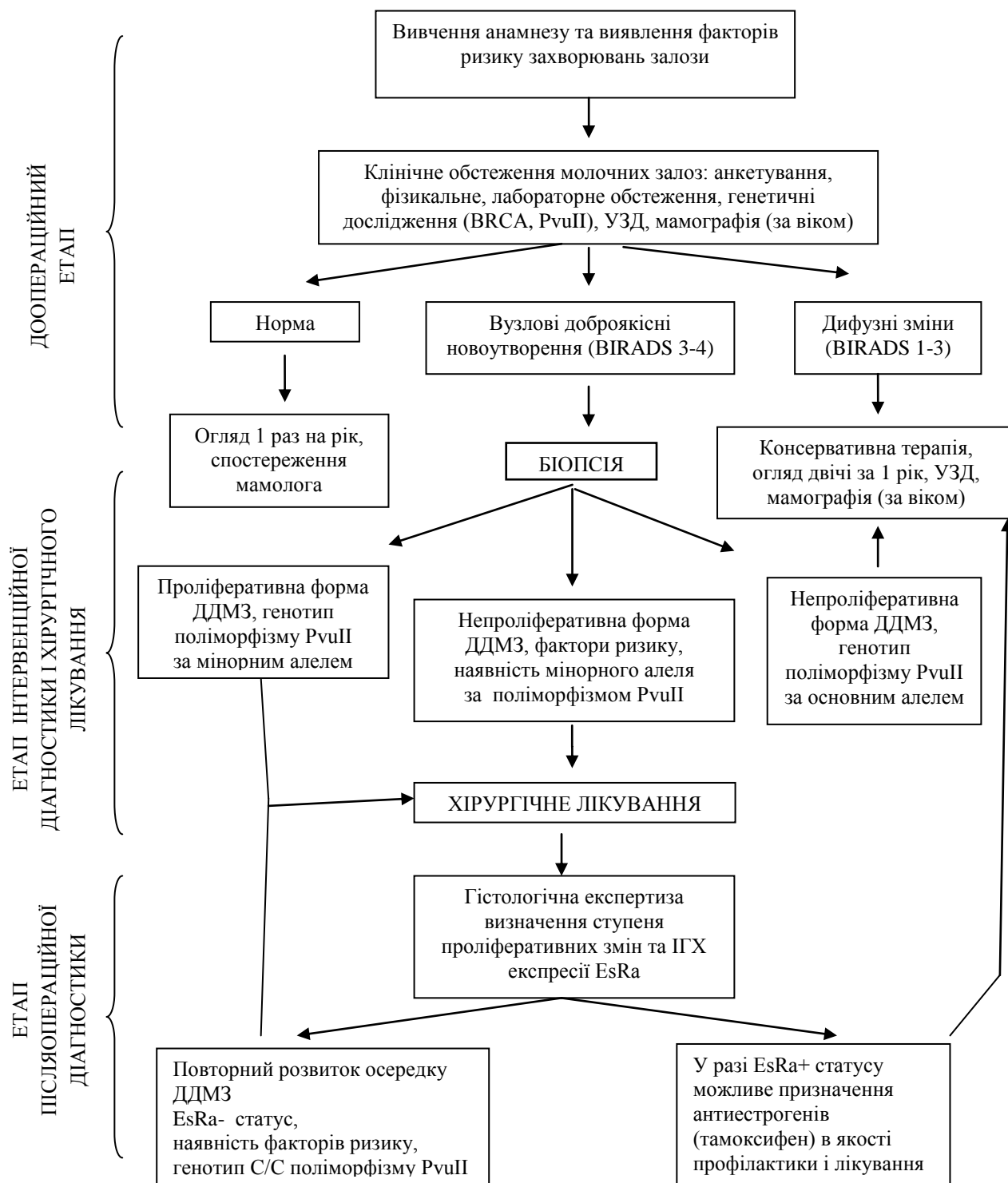


Рисунок 1 – Алгоритм ведення пацієнтів із доброякісними передпухлинними захворюваннями молочної залози

Залежно від результатів на тому чи іншому етапі дослідження використовують найбільш інформативну методику обстеження відповідно до описаного алгоритму. При синдромі вузлоутворення МЗ проводять клінічне обстеження, мамографію, ультразвукове дослідження, біопсію, цитологічне, гістологічне та ІГХ-дослідження залежно від знахідок. За наявності сецернації доцільно брати субстрат на цитологічне дослідження.

У пацієнок із факторами ризику ми пропонуємо визначати поліморфізм PvuII гена EsR α . Показанням для цього є: молодий (до 21 року) вік; зменшення ІМТ, подовження menses; первинна множинність ураження; рецидив хвороби; обтяжений сімейний анамнез; гіперекспресія EsR α ; непроліферативна форма ДДМЗ за результатами аспіраційної біопсії підозрілого осередку за результатами УЗД чи мамографії.

На етапі хірургічного лікування ми пропонуємо використовувати принципи пластичної, естетичної та реконструктивної хірургії. Ми розробили та втілили у практику методики хірургічного лікування проліферативної форми ДДМЗ, а саме:

- спосіб профілактики лактаційної дисфункції під час хірургічного лікування доброякісних новоутворень молочних залоз (патент України № 84896). Суть заявленої корисної моделі полягає у розробленні оптимального доступу до вузлового осередку ДДМЗ. Серед оперованих осіб у 59 (70,23 %) використано такий доступ під час видалення осередків ДДМЗ. Упродовж періоду спостереження (2 роки) у 11 (18,64 %) відбулися пологи та фізіологічна лактація більше ніж 6 місяців. Решта 48 (81,35 %) не народжували. У післяопераційний період усі пацієнтки задоволені естетичним виглядом зони оперативного лікування;

- спосіб оперативного лікування доброякісних захворювань протокової системи молочної залози (патент України № 83922). Завданнями заявленої корисної моделі є вибір адекватного доступу з видаленням ураженої протокової системи молочної залози в необхідному обсязі й маскуванням післяопераційного рубця. Застосування цієї методики дозволяє виконати хірургічне лікування через невеликий розріз на поверхні молочної залози, при цьому видалити необхідний об'єм залозистої паренхіми. Серед оперованих нами осіб у 8 (9,52 %) застосовано згаданий спосіб резекції молочної залози з приводу протокової проліферативної хвороби. Перед хірургічним втручанням протоки молочної залози заповнювали контрастним розчином брильянтового зеленого. В однієї пацієнтки впродовж першого року спостереження настала вагітність і відбулася лактація. У молочній залозі, яка була оперована, зберігалася лактація упродовж 6 місяців, однак потім розвинувся гострий мастит, і жінка відмовилася від подальшого годування грудьми. В післяопераційний період усі пацієнтки задоволені естетичним виглядом зони оперативного лікування;

- спосіб підшкірної мастектомії з одномоментним субмускулярним ендопротезуванням молочних залоз силіконовими імплантатами (патент України № 83954). Завданнями заявленої корисної моделі є виконання радикального хірургічного лікування при тотальній ДДМЗ 3–4-го ступенів проліферації за одночасного збереження природної форми органа. Технічний результат полягає у виконанні підшкірної мастектомії із двох доступів зі збереженням сосково-ареолярного комплексу та форми молочної залози, що дозволяють прооперованим жінкам запобігти виникненню психологічних розладів, пов'язаних із втратою органа. Збереження цілісності великого грудного м'яза не порушує функції верхньої кінцівки, а також зменшує ймовірність виникнення контрактур, що полегшує соціальну та психологічну реабілітацію пацієнок.

Серед оперованих у 2 (2,38 %) осіб ми застосували спосіб підшкірної мастектомії для лікування тотального ураження молочних залоз ДДМЗ із проліферацією 3–4-го ступенів.

Перший випадок – у пацієнтки Ф. 1962 року народження підшкірна мастектомія з одномоментним ендопротезуванням виконана після перенесених 13 секторальних резекцій із приводу полікістозу молочних залоз. Попередні хірургічні втручання призвели до значних деформацій органа й не були радикальними. Після проведеного хірургічного лікування за запропонованою методикою рецидиву хвороби не спостерігається впродовж усього періоду спостереження (2 роки). Пацієнтка задоволена естетичним виглядом молочних залоз.

Другий випадок – у пацієнтки П. 1969 року народження підшкірна мастектомія з одномоментним ендопротезуванням виконана з приводу фіброаденоматозу обох молочних залоз. Обстеження виявило тотальне ураження обох молочних залоз осередками ДДМЗ із вираженою проліферацією та тенденцією до атипичних змін і ділянки метаплазії. У пацієнтки упродовж останніх п'яти років розвинулася канцерофобія з огляду на РМЗ у близьких родичів. Хвора виявила бажання щодо радикального лікування із вимогою зберегти естетичний вигляд молочних залоз. Упродовж усього періоду спостереження (2 роки) пацієнтка задоволена естетичним виглядом молочних залоз.

Розроблено та впроваджено у практику хірургічний інструмент для фіксації та утримання доброякісного новоутворення молочної залози (патент України № 83923).

Після хірургічного лікування пацієнток із групи ризику до атиpii за клінічними та анамнестичними ознаками згідно з генотипом RvuII гена EsR α та експресією EsR α рекомендується призначення антиестрогенів із метою профілактики та лікування проліферативної ДДМЗ.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведені теоретичне узагальнення й спроба нового вирішення задачі про зв'язок між генетичними особливостями індивідуума та фенотипічними проявами доброякісної дисплазії молочної залози. Зокрема наведені дані щодо ролі поліморфізму RvuII у розвитку проліферації тканини молочної залози через механізми гіперекспресії EsR α , що можна використовувати як критерій необхідності хірургічного лікування.

1. Частота алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII у пацієнтів із проліферативною формою доброякісної дисплазії молочної залози розподілилася так: генотип T/T – 27,4 %, генотип T/C – 51,2 %, генотип C/C – 21,4 %.

2. Найбільш значущими клінічними предикторами у хворих на проліферативні форми доброякісної дисплазії молочної залози визначаються: мастодія ($\chi^2 = 11,444$; $P = 0,003$), зменшення ІМТ до $(21,17 \pm 1,06)$ кг/м² ($F = 5,020$; $P = 0,009$), подовжена менструація до $(5,67 \pm 0,30)$ дня ($F = 3,017$; $P = 0,055$).

3. За однакової гістологічної структури доброякісної дисплазії молочної залози встановлено різний рівень експресії EsR α в усіх варіантах вивченої патології. Водночас тип проліферації ДДМЗ не був обумовлений генотипом за поліморфізмом

RvuII гена EsR α ($\chi^2 = 9,123$; P = 0,167) і не залежав від рецепторного статусу за експресією EsR α ($\chi^2 = 2,236$; P = 0,525).

4. В оперованих хворих на доброякісну дисплазію молочної залози, крім стандартного морфологічного дослідження, виправданим є проведення імуногістохімічного тесту з визначенням рівня експресії EsR α , оскільки підвищення рівня експресії асоційоване зі збільшенням проліферації ($\chi^2 = 7,370$; P = 0,007) та гомозиготним станом (C/C) за поліморфізмом RvuII гена EsR α (F = 189,250; P < 0,001).

5. Гомозиготний стан (C/C) за поліморфізмом RvuII гена EsR α є достовірним індикатором підвищеної проліферативної активності зі схильністю до атипових змін ($\chi^2 = 43,142$; P < 0,0001), що є об'єктивним критерієм необхідності хірургічного лікування хворих на доброякісну дисплазію молочної залози.

6. Запропонований алгоритм комплексної діагностики доброякісної дисплазії молочної залози передбачає визначення генотипів за поліморфізмом RvuII та рівня експресії EsR α . На тлі предикторів атипової метаплазії (сімейний анамнез, мастодинія, зменшення ІМТ та подовжений термін mensis) його можна розглядати як «додаток» до відповідних наказів МОЗ України. Це дозволяє виділити групу пацієнтів, клітини молочної залози яких не мають рецепторів до естрогену. Призначення антиестрогенів пацієнтам цієї групи як засобу профілактики не дасть бажаного результату. Цим хворим необхідно запропонувати інший варіант профілактики подальшої атиpii – хірургічний.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Результати роботи можуть бути покладені в основу виявлення пацієнтів, схильних до розвитку проліферативних форм ДДМЗ, для своєчасного хірургічного лікування та запобігання розвитку малігнізації.

Рекомендовано визначати поліморфізм RvuII гена EsR α у пацієток із факторами ризику, до яких відносимо: молодий (до 21 року) вік пацієток; зменшення ІМТ, подовження mensis; первинну множинність ураження; рецидив хвороби; обтяжений сімейний анамнез; гіперекспресію EsR α ; непроліферативну форму ДДМЗ за результатами аспіраційної біопсії при виявленні осередку за результатами УЗД чи мамографії.

До групи високого ризику відносять пацієнтів із клінічними (мастодинії, триваліший період mensis), антропометричними (зменшення ІМТ) та молекулярно-генетичними (генотип C/C за поліморфізмом RvuII) предикторами проліферативних форм ДДМЗ. При поєднанні клінічних предикторів із гомозиготним станом C/C за поліморфізмом RvuII гена EsR α показане хірургічне лікування.

Курацію пацієнтів із проліферативними формами ДДМЗ рекомендовано проводити відповідно до запропонованого алгоритму.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

1. Шкірозберігаюча мастектомія у жінок із вузловими формами фіброзно-кістозної мастопатії, оперованих після секторальних резекцій / В. В. Андрющенко, В. В. Леонов, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко // Український науково-медичний

молодіжний журнал. – 2011. – № 2. – С. 143–145. *Дисертант приймав участь в оперативних втручаннях як асистент.*

2. Онкопластичні операції в лікуванні хворих на полікістоз молочних залоз / В. В. Андрющенко, В. В. Леонов, О. В. Языков, І. М. Лукавенко // Харківська хірургічна школа. – 2012. – № 3. – С. 39–41. *Дисертант приймав участь в оперативних втручаннях як асистент.*

3. Клиническое значение экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и маммаглобина при предопухоловой патологии молочных желез в практике хирурга-маммолога / И. М. Лукавенко, Н. Г. Кононенко, В.В. Андрющенко, О. В. Языков // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2013. – № 1. – С. 100–105. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає в аналізі результатів і участь в формуванні групи дослідження, статистичній обробці інформації та аналізі результатів ІГХ-дослідження.*

4. Лукавенко І. М. Зв'язок поліморфізму RvuII гена рецептора естрадіолу альфа (EsRa) з експресією EsRa при доброякісній дисплазії молочної залози / І. М. Лукавенко, В. В. Андрющенко, О. В. Языков // European Journal of Medicine. – 2014. – Vol. 1, № 1. – Р. 20–26. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає в аналізі результатів і участь в формуванні групи дослідження, статистичній обробці інформації та аналізі результатів генетичного дослідження.*

5. Лукавенко І. М. Вплив поліморфізму RvuII гена EsRa на ступінь проліферативної активності та експресії рецептора естрогену альфа при доброякісній дисплазії молочної залози / І. М. Лукавенко, В. В. Андрющенко, О. В. Языков // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2014. – № 4. – С. 450–457. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає в статистичній обробці інформації та аналізі результатів ІГХ-дослідження.*

6. The clinical significance of RvuII polymorphism estradiol receptor alpha gene to improve diagnosis of proliferative forms of benign breast dysplasia / I. Lukavenko, V. Andrijushenko, V. Garbuzova, A. Yazykov // Georgian Medical News.– 2015.– № 1 (238).– Р 12–17. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає в опрацюванні і аналізі результатів, формулюванні висновків.*

7. Immediate and long-term results of surgical treatment of benign breast disease / A. Yazykov, V. Leonov, V. Andrijushenko, I. Lukavenko // Georgian Medical News. – 2015. – № 2 (239). – Р 11–18. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає в аналізі результатів і участь в оперативних втручаннях як асистент.*

8. Спосіб підшкірної мастектомії з одномоментним субмускулярним ендопротезуванням молочних залоз силіконовими імплантатами: патент на корисну модель України № 83954. МПК (2013.01) А61В 17/00 від 10.10.2013 / В. В. Андрющенко, О. В. Языков, І. М. Лукавенко. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає у проведенні патентного пошуку, оформленні заявки на корисну модель, дисертантом виконано 35 % оперативних втручань.*

9. Хірургічний інструмент для фіксації і утримання тканини молочної залози: патент на корисну модель України № 83923. МПК А61В 5/107 (2006.01) А61В 17/28 (2006.01) від 10.10.2013 / В. В. Андрющенко, О. В. Языков, І. М. Лукавенко. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає у проведенні*

патентного пошуку, висуванні ідеї способу, оформленні заявки на корисну модель.

10. Спосіб оперативного лікування доброякісних захворювань протокової системи молочної залози: патент на корисну модель України № 83922. МПК (2013.01) А61В 17/00 від 10.10.2013 / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає у проведенні патентного пошуку, висуванні ідеї способу, оформленні заявки на корисну модель, дисертантом виконано 30 % оперативних втручань.*

11. Спосіб профілактики лактаційної дисфункції в хірургічному лікуванні доброякісних новоутворень молочної залози: патент на корисну модель України № 84896. МПК (2013.01) А61В 17/00 від 11.11.2013 / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко. *Особистий внесок здобувача у цій роботі полягає у проведенні патентного пошуку, оформленні заявки на корисну модель дисертантом виконано 35 % оперативних втручань.*

12. Лукавенко І. М. Клиническое значение экспрессии маммаглобина у пациенток с предопухолевыми патологиями молочных желез / И. М. Лукавенко, В. В. Андрющенко, О. В. Язиков // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2013. – С. 222.

13. Андрющенко В. В. Естетична хірургія доброякісних захворювань молочної залози / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2013. – С. 243–244.

14. Андрющенко В. В. Малоінвазивна хірургія солідних доброякісних новоутворень молочних залоз / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2013. – С. 243.

15. Андрющенко В. В. Клиническое значение экспрессии рецепторов стероидных гормонов у пациенток с предопухолевыми патологиями молочных желез / В. В. Андрющенко, А. В. Язиков, И. М. Лукавенко // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2013. – С. 221–222.

16. Lukavenko I. How to proliferative activity and expression of estradiol receptor alpha (EsR α) with PvuII gene polymorphism EsR α in benign breast dysplasia / I. Lukavenko // 1st International Academic Congress «Fundamental and Applied Studies in the Pacific and Atlantic Oceans Countries». – Tokyo, Japan, October 25, 2014. – P. 63–72.

17. Лукавенко І. М. Профілактика ускладнень лактації при хірургічному лікуванні фіброаденом молочної залози / І. М. Лукавенко, В. В. Андрющенко, О. В. Язиков // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2014. – С. 245–246.

18. Лукавенко І. М. Експресія α -рецептора естрогену при передпухлинній патології в тканині молочної залози / І. М. Лукавенко, В. В. Андрющенко, О. В. Язиков // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2014. – С. 258.

19. Лукавенко І. М. Особливості хірургічного лікування аденоми молочної

залози на фоні лактації (клінічний випадок) / І. М. Лукавенко, В. В. Андрющенко, О. В. Язиков // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2014. – С. 259.

20. Лукавенко І. М. Експресія α -рецептора естрогену в тканині молочної залози при проліферативній формі мастопатії / І. М. Лукавенко // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання сучасної медицини». – Харків, 2014. – С. 60–61.

21. Андрющенко В. В. Оцінка якості життя після хірургічного лікування доброякісних захворювань молочних залоз / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко // Тези доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2014. – С. 290–291.

22. Андрющенко В. В. Новітні аспекти хірургії доброякісних захворювань молочних залоз / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко // Матеріали IV з'їзду ВАПРЕХ «Актуальні питання пластичної, реконструктивної та естетичної хірургії». – Київ, 2014. – С. 5–8.

23. Андрющенко В. В. Естетична конусоподібна резекція протокової системи молочної залози / В. В. Андрющенко, О. В. Язиков, І. М. Лукавенко // Матеріали IV з'їзду ВАПРЕХ «Актуальні питання пластичної, реконструктивної та естетичної хірургії». – Київ, 2014. – С. 5–6.

АНОТАЦІЯ

Лукавенко І. М. Клінічне значення поліморфізму RvuII гена рецептора естрадіолу альфа в обґрунтуванні показань до хірургічного лікування хворих на проліферативну доброякісну дисплазію молочних залоз. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.03 – хірургія. – ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О. О. Шалімова НАМН України», Київ, 2015.

Дисертація присвячена розробленню критеріїв клінічної, морфологічної, імуногістохімічної та молекулярно-генетичної діагностики проліферативної доброякісної дисплазії молочної залози для обґрунтування хірургічного способу лікування.

Уперше вивчено розподіл алельних варіантів гена EsR α за поліморфізмом RvuII у хворих на проліферативну форму доброякісної дисплазії молочної залози. Виявлено зв'язок клініко-анамнестичних, імуногістохімічних предикторів формування проліферативної доброякісної дисплазії молочної залози з молекулярно-генетичними особливостями за поліморфізмом RvuII гена EsR α . Доведено, що носії мінорного алеля C/C за поліморфізмом RvuII гена EsR α мають схильність до виражених проліферативних та атипичних змін тканини молочної залози. Показано, що у розвитку проліферативної мастопатії важливу роль відіграє рівень експресії EsR α , обумовлений наявністю мінорного алеля C/C за поліморфізмом RvuII гена EsR α .

Уперше доведено доцільність визначення генотипу пацієнта за поліморфізмом

RvuII гена EsR α під час обстеження ДДМЗ і використання цього генетичного індикатора як достовірного критерію необхідності хірургічного лікування.

При поєднанні клінічних предикторів проліферативної дисплазії молочних залоз (мастодинія, тривалий період *mensis*), зменшенні ІМТ із гомозиготним станом С/С за поліморфізмом RvuII гена EsR α показане хірургічне лікування із подальшим ІГХ-тестом. На основі розроблених критеріїв доповнено й удосконалено алгоритм ведення пацієнток із доброякісною дисплазією молочної залози.

Ключові слова: дисплазія молочних залоз, хірургічне лікування, значення поліморфізму RvuII, рецептор естрогену альфа (EsR α).

АННОТАЦІЯ

Лукавенко И. М. Клиническое значение полиморфизма RvuII гена рецептора эстрадиола альфа в обосновании показаний к хирургическому лечению больных с пролиферативной доброкачественной дисплазией молочных желез. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.03 – хирургия. – ГУ «Национальный институт хирургии и трансплантологии им. А. А. Шалимова НАМН Украины», Киев, 2015.

Диссертация посвящена разработке критериев клинической, морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической диагностики пролиферативной доброкачественной дисплазии молочной железы для обоснования хирургического способа лечения.

Впервые изучено распределение аллельных вариантов гена EsR α по полиморфизму RvuII у больных с пролиферативной формой дисплазии молочных желез, осуществлен комплексный анализ и выявлена связь клинико-анамнестических, иммуногистохимических предикторов формирования пролиферативной доброкачественной дисплазии молочной железы с молекулярно-генетическими особенностями по полиморфизму RvuII гена EsR α . Доказано, что носители минорного аллеля С/С по полиморфизму RvuII гена EsR α имеют склонность к выраженным пролиферативным и атипичным изменениям ткани молочной железы. Показано, что в развитии пролиферативной мастопатии важную роль играет уровень экспрессии EsR α , обусловленный наличием минорного аллеля С/С по полиморфизму RvuII гена EsR α .

Впервые доказана целесообразность определения генотипа пациенток по полиморфизму RvuII гена EsR α при обследовании доброкачественной дисплазии молочной железы и использовании данного генетического индикатора как достоверного критерия необходимости хирургического лечения. Рекомендовано определять генотипы полиморфизма RvuII гена EsR α у пациенток с факторами риска, к которым относятся: молодой (до 21 года) возраст; уменьшение индекса массы тела; удлиненный период *mensis*; рецидив болезни; отягощенный семейный анамнез; гиперэкспрессия EsR α ; непролиферативная форма дисплазии молочных желез по результатам аспирационной биопсии при выявлении очага на УЗИ или маммографии. При сочетании предикторов пролиферативной дисплазии молочных желез показано хирургическое лечение с последующим ИГХ-тестом, поскольку

генотип C/C по полиморфизму PvuII гена EsR α ассоциирован с увеличением экспрессии EsR α и степенью пролиферации в ткани молочной железы при её дисплазии.

На основе разработанных критериев дополнен и усовершенствован алгоритм ведения пациенток с ДДМЖ. Разработаны и предложены в практику методики хирургического лечения пролиферативной формы доброкачественной дисплазии молочной железы, а именно: способ профилактики нарушений лактации после хирургического лечения доброкачественных новообразований молочных желез; способ оперативного лечения доброкачественных заболеваний протоковой системы молочной железы; способ подкожной мастэктомии с одномоментным субмускулярным эндопротезированием молочных желез силиконовыми имплантатами. Разработан и внедрен в практику хирургический инструмент для фиксации и удержания доброкачественного новообразования в молочной железе.

Ключевые слова: дисплазия молочных желез, хирургическое лечение, значение полиморфизма PvuII, рецептор эстрогена альфа (EsR α).

ANNOTATION

Lukavenko I. M. The clinical significance of PvuII polymorphism estradiol receptor alpha gene in the justification indications for surgical treatment of patients with proliferative benign breast dysplasia. – The manuscript.

The thesis for receiving the scientific degree of candidate of medical sciences in speciality 14.01.03 – Surgery. National Institute of Surgery and Transplantology named after O. O. Shalimov of National Ukrainian Academy of Medical Science, Kyiv, 2015.

Dissertation is devoted to the development of criteria for clinical, morphological, immunohistochemistry (IGC) and genetics diagnosis of proliferative benign breast dysplasia (BBD) to justify the surgical method of treatment.

For the first time we studied the distribution of allelic variants of the gene polymorphism EsR α PvuII in patients with proliferative form BBD. Found association clinical, IGC predictors of proliferative BBD with molecular genetics features of PvuII gene polymorphism EsR α . It is proved that the carriers of the minor allele of C/C polymorphism of the gene PvuII EsR α tend to severe proliferative and atypical changes in breast tissue. It is shown that in the development of proliferation important role is EsR α expression level, due to the presence of the minor allele of a C/C gene polymorphism PvuII EsR α .

It is proved that the genotype C/C at EsR α gene PvuII polymorphism associated with increased expression EsR α and the degree of proliferation in breast tissue. It is proved that the combination of clinical predictors of proliferative breast dysplasia (mastalgia, extended period of menstruation), reducing BMI with homozygous C/C polymorphism of the PvuII gene EsR α surgical treatment followed by test of EsR α expression. On the basis of the criteria developed by the updated and improved algorithm for management of patients with BBD.

Key words: breast dysplasia, surgical treatment, the value of polymorphism PvuII, estrogen receptor alpha (EsR α).

Підписано до друку 10.12.2015.
Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 1,1. Обл.-вид. арк. 0,9. Тираж 100 пр. Зам. №

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3062 від 17.12.2007.